

УДК 577.3:621.384.8:547.495.9

ВЗАЄМОДІЯ СОЛЕЙ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ З ЛІПІДНИМИ КОМПОНЕНТАМИ МЕМБРАН**А.В. Лисиця¹, А.В. Ребрів²**¹*Інститут сільського господарства Західного Полісся НААН України,
вул. Князя Володимира, 16/18, м. Рівне, 33028, Україна*

lysycua@ukr.net

²*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна*

Надійшла до редакції 14 березня 2013 року

Прийнята 30 квітня 2013 року

Досліджено можливості утворення в модельних системах стійких міжмолекулярних комплексів між солями полігексаметиленгуанідину (ПГМГ) та окремими ліпідними компонентами цитоплазматичних мембран (ЦПМ). В якості останніх використані холестерин і фосфатидилхоліні, які містять залишки жирних кислот від C_{14:0} до C_{18:0}. Поліалкіленгуанідин ПГМГ належить до групи катіонних дезінфектантів. В експериментах були випробувані такі його солі, як хлорид, сукцинат, малеат і валерат. На мас-спектрах MALDI-TOF MS і TOF-PDMS солі ПГМГ представлені олігомерами (n = 2 - 10) з молекулярною масою від 300 до 1430 Да. Мас-спектрометричні дослідження сумішей полікатионів з ліпідами показали, що в рідкому агрегатному стані незалежно від часу експозиції в діапазоні m/z до 3 000 стійкі міжмолекулярні утворення між олігомерами ПГМГ та ліпідами відсутні. Перевірка припущення, що серед можливих механізмів деструктивної дії ПГМГ на мембрани клітин може бути в тому числі й руйнування молекул окремих фосфоліпідів, показало відсутність у препарату ліпазної активності. Отримані результати дали можливість більш чітко зрозуміти біофізичні аспекти бактерицидної дії ПГМГ. Зокрема, уточнено механізми, які спричиняють його мембранодеструктивну активність. Визначено, що головною мішенню для препарату є фосфоліпідний бішар ЦПМ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: полігексаметиленгуанідин, дезінфектант, деструкція мембрани, ліпіди, мас-спектрометрія.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА С ЛИПИДНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ МЕМБРАН**А.В. Лисица¹, А.В. Ребриев²**¹*Інститут сільського господарства Західного Полісся НААН України, вул. Князя Володимира, 16/18,
г. Рівно, 33028, Україна*²*Інститут біохімії ім. А.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, г. Київ, 01601, Україна*

Проведены исследования возможности образования в модельных системах стойких межмолекулярных комплексов между солями полигексаметиленгуанидина (ПГМГ) и отдельными липидными компонентами цитоплазматических мембран (ЦПМ). Использованы холестерин и фосфатидилхолин, содержащие остатки жирных кислот от C_{14:0} до C_{18:0}. Полиалкиленгуанидин ПГМГ относится к группе катионных дезинфектантов. В экспериментах были использованы соли ПГМГ хлорид, сукцинат, малеат и валерат. На масс-спектрах MALDI-TOF MS и TOF-PDMS соли ПГМГ представлены в виде олигомеров (n = 2 - 10) с молекулярной массой от 300 до 1430 Да. Масс-спектрометрические исследования смесей поликатионов с липидами показали, что в жидком агрегатном состоянии независимо от времени экспозиции в диапазоне m/z до 3 000 стойкие межмолекулярные образования между олигомерами ПГМГ и липидами отсутствуют. Проверка предположения, что среди возможных механизмов деструктивного действия ПГМГ на мембраны клеток может иметь место повреждение отдельных молекул фосфолипидов, показало отсутствие у препарата липазной активности. Полученные результаты позволили лучше понять биофизические аспекты бактерицидных свойств ПГМГ и уточнить механизмы его мембранодеструктивного действия. Определено, что главной мишенью для препарата является фосфолипидный бислой ЦПМ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полигексаметиленгуанидин, дезинфектант, деструкция мембраны, липиды, масс-спектрометрия.

INTERACTION OF THE POLYHEXAMETHYLENEGUANIDINE SALTS WITH LIPID COMPONENTES OF MEMBRANES**A.V. Lysytsya¹, A.V. Rebriev²**¹*Agriculture Institute of the West Polissya of the NAAS of Ukraine, Knjaza Volodymyra Street, 16/18, Rivne, Ukraine, 33028*²*Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine, Leontovicha Street, 9, Kyiv, Ukraine, 01601*

Possibilities of formation in model systems of persistent complexes between the molecules of salts polyhexamethyleneguanidine (PHMG) and individual lipid components of the cytoplasm membrane (CPM) were studied. We used cholesterol and phosphatidylcholines which contain fatty acids from C_{14:0} to C_{18:0}. The polialkilenguanidine PHMG belongs to group of cationic disinfectants. Salts of PHMG chloride, succinate, maleate and valerate in the experiments were used. PHMG salts in the mass spectrum MALDI-TOF MS and TOF-PDMS are presented as oligomers (n = 2 - 10) with molecular weights from 300 to 1430 Da. Mass spectrometric studies mixtures of polycations with lipids are showed that in the liquid state, regardless of the exposure time, in the range to m/z 3000 persistent to formation of intermolecular between oligomers of PHMG and lipids are absent. We have tested hypothesis, according to which a possible mechanism of the action PHMG destructive membrane in damage of the cell, can be caused with individual phospholipids molecules destruction. Results showed the absence of lipase activity of the preparation. These data allow us to better understand the biophysical aspects of the bactericidal properties of PHMG and to clarify the mechanisms of its destructive effect to membrane. Phospholipids bilayer of the CPM is the main target for the drug.

KEY WORDS: polyhexamethyleneguanidine, disinfectant, membrane destruction, lipids, mass-spectrometry.

Незважаючи на широке застосування полімерних похідних гуанідину в складі дезінфікуючих засобів, біофізичні аспекти їх біоцидної дії вивчені недостатньо. Одним з типових представників цієї групи сполук є полігексаметиленгуанідин (polyhexamethyleneguanidine, ПГМГ) [1]. Щодо механізмів його дії на клітину існує кілька теорій. Так, зокрема, вважається, що полікатіон ПГМГ порівняно легко долає бактеріальну стінку, завдяки електростатичним взаємодіям зв'язується з негативно зарядженою бактеріальною мембраною, що призводить до порушення її функцій і руйнування, після цього проникає всередину клітини, де осаджує білки та нуклеїнові кислоти цитозоль [2]. Або, по аналогії з полігексаметиленбігуанідином (ПГМБ), припускається, що адсорбція препарату на цитоплазматичній мембрані (ЦПМ) може індукувати роботу аутолітичних ферментів і це призводить до загибелі мікроорганізму [3]. Інші автори вказують, що гідрофобні поліетиленові ділянки сприяють адсорбції ПГМГ на ЦПМ. Після чого препарат проникає в клітину, блокує роботу ферментів, перешкоджає реплікації нуклеїнових кислот, пригнічує дихальну систему і все це спричинює загибель клітини [1]. Також, по аналогії з хлоргексидином (група бісбігуанідинів), можна припустити, що після адсорбції препарату на поверхні клітини зменшується текучість (плинність) мембрани, порушуються осморегуляція і метаболічна активність мембранних ферментів. За іншою версією адсорбція молекул полікатіона ПГМГ, подібно до ПГМБ, викликає сегрегацію кислих і нейтральних фосфоліпідів в мембрані. Внаслідок чого утворюються гексагональні ліпідні структури, які видаляються з поверхні клітини, тобто відбувається свого роду «висмикування» ліпідів з ЦПМ [4]. Фактично, на сьогодні відсутнє чітке розуміння особливостей дії ПГМГ на клітину. Це не дозволяє повною мірою розкрити і використати потенціал сполуки. Наприклад, деякі автори вважають, що механізм дії ПГМГ ґрунтується на коагуляції білка мікробної клітини [5]. Препарат справді володіє хорошими коагулянтними і флокулянтними властивостями, більше того, його застосовують в процесах очищення питної або стічних вод не лише в якості біоциду [1, 6]. Разом з тим, на нашу думку, найбільш важливою складовою комплексної дії полімерних похідних гуанідину на клітину все ж є їх взаємодія з клітинною мембраною, зокрема з

штучної бішарової ліпідної мембрани (БЛМ) і в першому наближенні імітує склад ЦПМ. Час експозиції речовин в сумішах становив від 30 хв. до 14 діб. Для підготовки сумішей ПГМГ з ліпідами сполуки брали в еквімолярних співвідношеннях. Оскільки розміри молекул ПГМГ залежать від технології синтезу і очищення, то маси окремих молекул полімеру коливаються в досить широких межах: від кількох сотень до кількох тисяч, інколи десятків тисяч Да. Тому молярну концентрацію розраховували за масою мономеру 141 Да. Таким чином, 1 % концентрація ПГМГ в розчині відповідає ≈ 70 мМ. В більшості вимірювань використовували 0,2 % (14 мМ) концентрацію солей ПГМГ.

Дослідження TOF-PDMS проводили на мас-спектрометрі біохімічному МСБХ-01 з іонізацією зразка уламками ділення ядер ^{252}Cf ("SELMI", Україна). Використовували прискорюючі напруги від +10 кВ до -10 кВ. Дослідження методом MALDI-TOF проводили на спектрометрі Voyager DE PRO (Applied Biosystems, США). Застосовували H^+ -матричну іонізацію за допомогою 2,5-дигідроксибензойної кислоти або ДНВ (Fluka, Швейцарія) під дією лазерного опромінення. Концентрація ДНВ у матричному реагенті становила 1 мг/мл, розчинник складався з однакових об'ємів метанолу (Sigma-Aldrich, США) та деіонізованої води. Співвідношення матричного реагенту до розчину досліджуваного зразка 1:1 (за об'ємом). Застосовували рефлекторний режим роботи мас-спектрометра, напруга 20 кВ. Отримані спектри обробляли за допомогою програми Data Explorer 4.0 (Applied Biosystems, США). Вимірювали моноізотопні значення мас протонуваних молекул, для усереднення використовували дані 4-7 спектрів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Раніше нами було визначено типовий олігомерний склад різних солей ПГМГ [15]. Зокрема, на мас-спектрах TOF-PDMS ПГМГ хлориду (рис. 2.а) присутні піки протонуваних іонів $[\text{M}+\text{H}]^+$ олігомерів з m/z 301, 442, 583, 724, 865 і 1006 (кількість мономерів n від 2 до 7, кінцеві групи полімерного ланцюга $-\text{H}$ та $-\text{NH}_2$). На спектрах MALDI-TOF ПГМГ сукцинату (рис. 2.б) це m/z 583.5, 724.7, 865.8, 1007.0, 1148.1, 1289.5, 1430.2 ($n = 4 - 10$) з тим самим кроком $\Delta m/z \approx 141$, що дорівнює масі мономеру. M/z 541.5 – олігомер ПГМГ хлориду ($n = 3$) з двома кінцевими аміногрупами, а m/z 625.5 – протонований олігомер ($n = 4$) з двома кінцевими гуанідиновими групами. При чому з'ясувалося, що тип аніону в солях ПГМГ має суттєве значення при іонізації в PDMS і мало впливає на характер мас-спектрів MALDI.

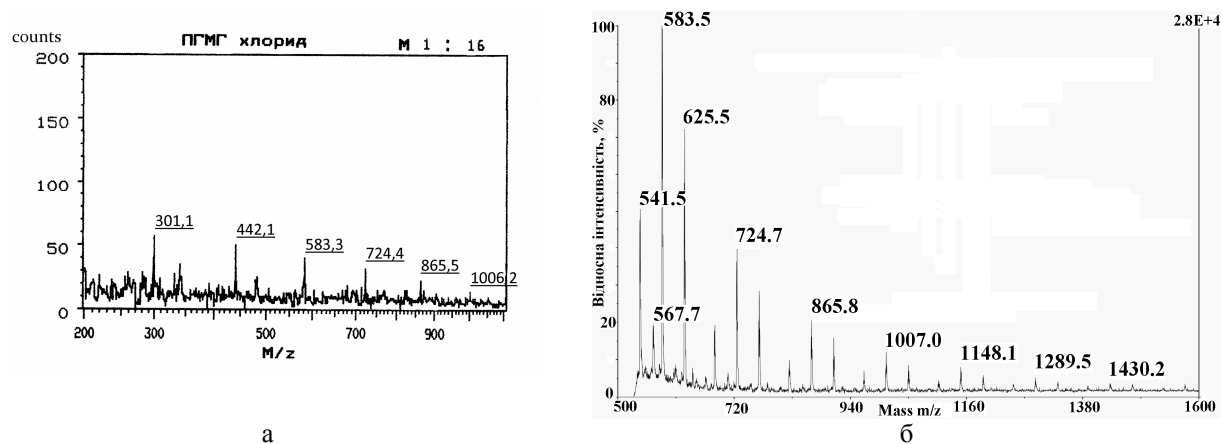


Рис. 2. Мас-спектри олігомерів солей ПГМГ: а – PDMS ПГМГ хлориду; б –MALDI ПГМГ сукцинату.

На спектрах MALDI ліпідів, наприклад суміші лецитин - холестерин (рис. 3.а), m/z 761.3, належить молекулярному протонованому іону $[M+H]^+$ 1-пальмітоїл-2-олеоїл-sn-фосфатидилхоліну ($C_{16:0}$, $C_{18:1}$) з $M = 760$ Да, а m/z 1521.5 – його протонований димер $[2M+H]^+$, також наявні молекулярні іони деяких інших фосфатидилхолінів, зокрема m/z 759.2 – ($C_{16:1}$, $C_{18:1}$), m/z 789.2 – $[M+H]^+$ – ($C_{18:0}$, $C_{18:1}$), m/z 787.3 – належить 1,2-діолеоїл-sn-фосфатидилхоліну ($C_{18:1}$, $C_{18:1}$), m/z 1283.1 – димер (760 + 523).

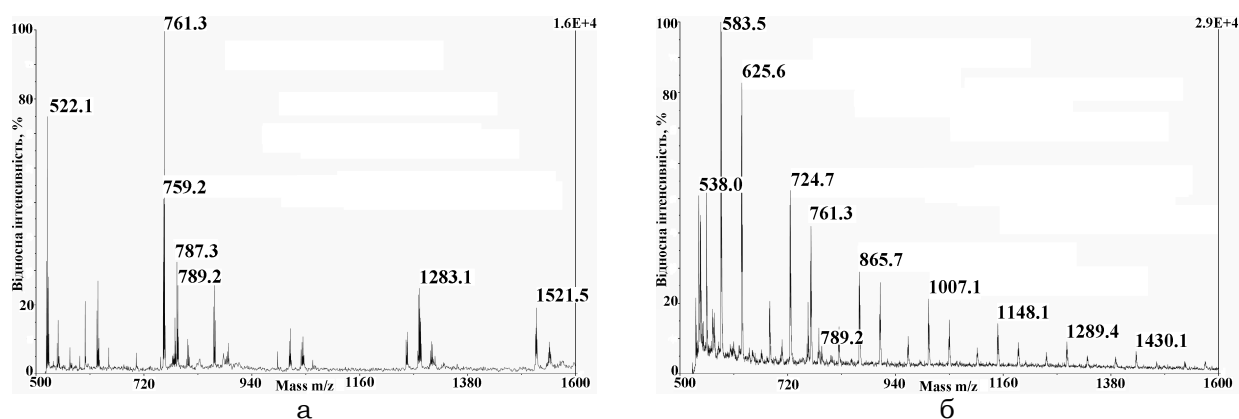


Рис. 3. Мас-спектри MALDI: а – суміші ліпідів лецитин-холестерин (2:1); б – суміші ПГМГ сукцинату з лецитин-холестерином.

Дослідження сумішей солей ПГМГ з лецитином, фосфатидилхолінами різного жирнокислотного складу, холестерином або композиціями фосфатидилхолін - холестерин (2:1) показали, що незалежно від часу перебування інгредієнтів в розчинах в діапазоні m/z до 3 000 асоціати ліпід - олігомер ПГМГ відсутні. Так на спектрі MALDI суміші ПГМГ сукцинату з лецитин - холестерином (рис. 3.б) наявні всі типові піки як ПГМГ, так і лецитину. На спектрі суміші ПГМГ сукцинату з 1,2-диміристоїл-sn-фосфатидилхоліном ($C_{14:0}$, $C_{14:0}$) m/z 583.6, 724.7, 865.9, 1007.1, 1148.5 належать олігомерам ПГМГ ($n = 4 - 8$), а m/z 678.9 і 700.8 – квазімолекулярні іони ліпідів $[M+H]^+$ і $[M+Na]^+$, відповідно (рис. 4). Жодного нового піку, який можна було б ідентифікувати, як комплекс ПГМГ - ліпід також не виявлено. Аналогічні результати отримано і для сумішей з ліпідами інших солей ПГМГ. Тобто, олігомери ПГМГ, принаймні з масою до 2 кДа, міцних міжмолекулярних комплексів з фосфатидилхолінами або холестерином не утворюють.

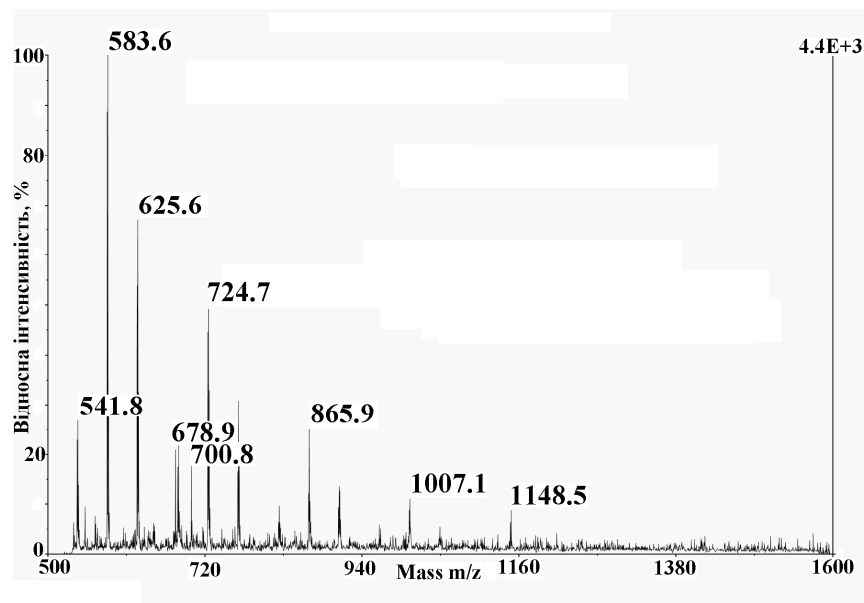


Рис. 4. Мас-спектр MALDI суміші ПГМГ сукцинату з фосфатидилхоліном ($C_{14:0}$, $C_{14:0}$).

Але на всіх спектрах сумішей випробуваних солей ПГМГ лецитином або композицією лецитин - холестерин з'являється новий пік m/z 538.0 (рис. 3.б). Цей похідний можна інтерпретувати, як результат взаємодії фрагменту фосфоліпиду (без залишку кислоти $C_{16:0}$) з аміногрупою ПГМГ (рис. 5.а). Наявність на спектрах такого фрагменту (лецитин без одного залишку жирної кислоти) дозволило припустити, що ПГМГ може володіти ліпазною активністю. А подібне руйнування молекул фосфоліпідів може бути однією з складових комплексної дії препарату на ліпідні мембрани.

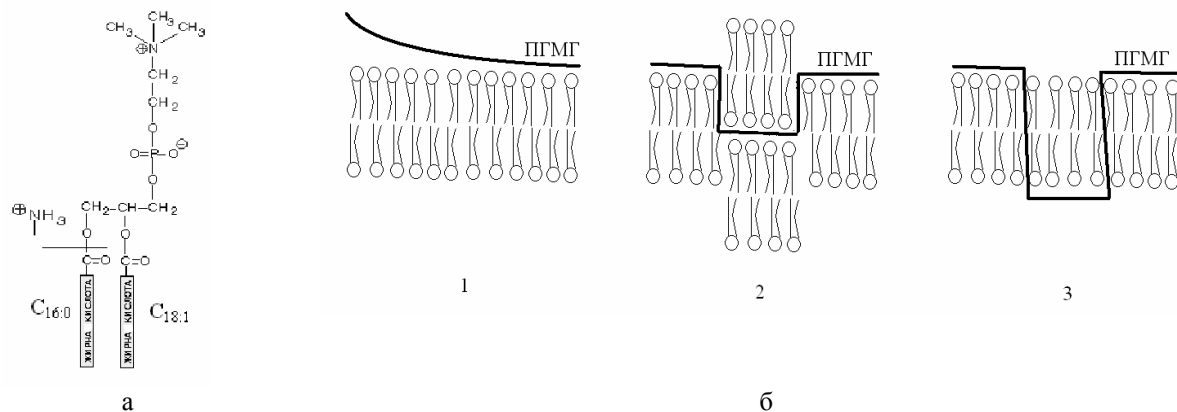


Рис. 5. а – похідне лецитину з m/z 538, яке утворюється у результаті взаємодії молекули фосфоліпиду з ПГМГ; б – схема можливого способу закріплення молекули ПГМГ на ліпідному бішарі.

Для виявлення можливої появи в сумішах ПГМГ – фосфоліпід значної кількості залишків жирних кислот краще підходить метод PDMS. Проте, дослідження показали відсутність на спектрах негативних іонів зростання типових піків вільних жирних кислот. Наприклад, на мас-спектрі суміші ПГМГ сукцинату з 1,2-диміристоїл-*sn*-фосфатидилхоліном ($C_{14:0}$, $C_{14:0}$) присутній пік з m/z 227,0 (рис. 6.а), який належить залишку міристинової (*n*-тетрадеканової) кислоти. Але подібний за інтенсивністю пік

можна спостерігати в мас-спектрі чистого ліпиду (рис. 6.б). Такі ж результати отримано і для сумішей солей ПГМГ з іншими фосфоліпідами. При цьому час перебування (експозиції) сполук в сумішах теж не мав суттєвого значення. Насамкінець, в спектрах MALDI самого лецитину також присутні подібні іони, зокрема m/z 522.1 – протонована молекула фосфатидилхоліну ($C_{16:0}$, $C_{18:1}$) без залишку пальмітинової кислоти (рис. 3.а). Тобто, гіпотеза щодо можливої ліпазної активності препарату не знайшла підтвердження.

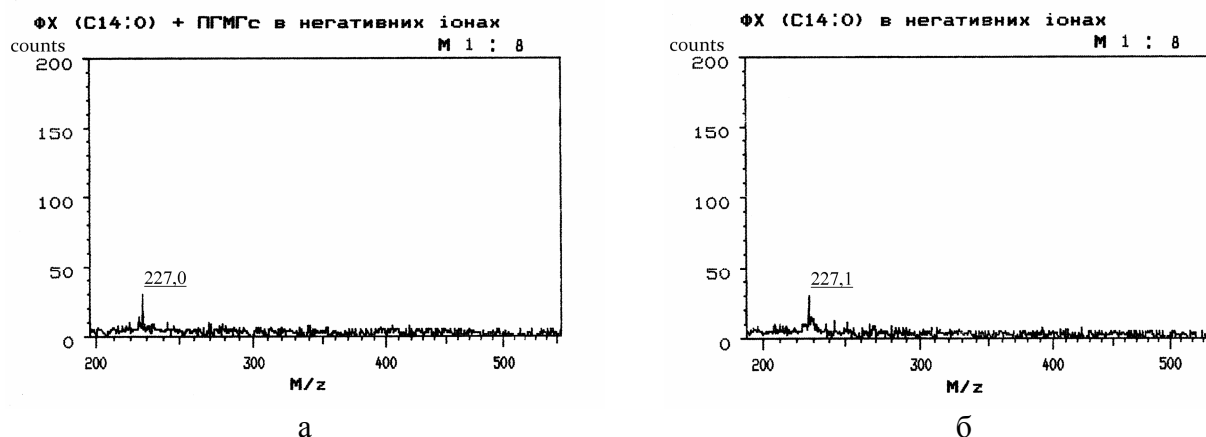


Рис. 6. Мас-спектри PDMS в негативних іонах: а – суміш ПГМГ сукцинату з фосфатидилхоліном ($C_{14:0}$, $C_{14:0}$), б – фосфатидилхолін ($C_{14:0}$, $C_{14:0}$).

Методом PDMS також не виявлено ніяких міжмолекулярних комплексів, які можна було б інтерпретувати, як асоціати олігомерів ПГМГ з молекулами фосфоліпідів або холестерином. Подібні асоціати були б логічними між полікатіоном ПГМГ і кислими або аніонними мембранними ліпідами (фосфатидилгліцерол, фосфатидилсерин або кардіоліпін). Фосфатидилхолін (лецитин) вважається порівняно нейтральним ліпідом. Тому цілком ймовірно, що електростатичні взаємодії не значні, а міжмолекулярні комплекси, якщо й утворюються, то не міцні. Холестерин також аж ніяк не можна віднести до аніонних ліпідів. Разом з тим, як зазначалося, попередні наші експерименти показали, що солі ПГМГ незворотно адсорбуються на штучну БЛМ з фосфатидилхоліну - холестерину (2:1) і порівняно швидко викликають трансмембранний іонний струм та розрив мембрани [10]. Звичайно, лецитин не зовсім нейтральний ліпід, він швидше цвіттеріон, однак теза про провідну роль саме електростатичних сил [1, 2] у взаємодії ПГМГ з ліпідами мембрани не беззаперечна.

Яким же чином поліалкіленгуанідини можуть міцно зв'язуватися з ліпідними мембранами? Не виключено, що закріплення молекул ПГМГ на порівняно електронейтральному лецитин - холестериновому ліпідному бішарі пов'язане з утворенням своєрідних «петель». Подібний механізм адсорбції на поверхні ліпосом описаний для деяких інших полікатіонів [12]. Спрощено для ПГМГ це може виглядати, як показано на рис. 5.б. Цьому процесу можуть сприяти як фліп-флоп переходи фосфоліпідів, так і локальні зміни текучості (плинності) мембрани в місцях адсорбції полікатіону та залежність конформації молекули ПГМГ від рН. Такі петлі можуть викликати пертурбацію всього ліпідного бішару ЦПМ і спричинювати цитоцидну дію дезінфектанту. Відбувається зміна дипольного потенціалу мембрани, гідратація та декомпресія ліпідів.

Доказом на користь цієї схеми можуть бути результати отримані нами на БЛМ [16]. Зокрема, на рівнішій і тоншій пласкій поверхні БЛМ з синтетичного 1,2-дифітаноїл-сп-гліцери-3-фосфохоліну адсорбція полікатиону і розрив мембрани відбуваються значно швидше, ніж у випадку використання грубішої та нерівної (неоднорідної за фосфоліпідним складом) БЛМ підготовленої з лецитину (фосфатидилхоліну ячного жовтка). Також відомо, що реакція зв'язування ПГМГ з фосфоліпідними голівками екзотермічна, а проникнення полікатиону в гідрофобну частину ліпідного бішару процес ендотермічний [8].

Аргументом може бути й той факт, що низькомолекулярні мономери (до ≈ 800 Да) майже не володіють бактерицидною активністю [1, 17]. Тобто, ефективно взаємодіють з мембраною (адсорбуються) олігомери починаючи з гекса-гексаметиленгуанідина ($n = 6$, $M \approx 864$ Да). Так само й для інших полікатионів – полілізінів. Зокрема, помічено що пенталізін легко десорбується з мембран, які складаються з аніонних фосфоліпідів, міцно адсорбуватися навіть на такі негативно заряджені мембрани можуть лише молекули більшої молекулярної маси, з $n \geq 6$ [18].

Міцність адсорбції ПГМГ на умовно нейтральній лецитин - холестериновій мембрані в першу чергу пов'язана з будовою мономеру, а саме його розмірами та відстанню між активними гуанідиновими групами. На відміну від ПГМГ, такі полікатиони як полілізини [18] або полі-N-етил-4-вінілпіридиній бромід [11, 12] можуть міцно адсорбуватися лише на мембранах, що містять кислі фосфоліпіди. А мікробіологічні дослідження для поліалкіленгуанідинів типу ПГМГ показують, що зміна довжини алкільної ділянки мономеру призводить до зменшення бактерицидної активності [1, 4, 8, 17]. Доречі, і для таких дезінфектантів катіонної природи як декаметоксин або етоній відстань між четвертинними атомами азоту має суттєве значення і визначає геометричні параметри їх вбудовування в фосфоліпідні мембрани [14].

Отже, взаємодія позитивно заряджених іміногруп ПГМГ з негативно зарядженими групами фосфоліпіду має свого роду «комплементарний» характер. Довжина алкільного ланцюжка, що з'єднує сусідні гуанідинові групи в полімері, приблизно співпадає з відстанню між зарядженими фосфоліпідними голівками в щільно упакованому ліпідному бішарі. Під час адсорбції ПГМГ на ЦПМ клітини і його зв'язуванні з фосфоліпідами змінюється конформація самої молекули полікатиону. За аналогією з дією деяких антимікробних пептидів можна припустити, що у водному розчині молекули ПГМГ мають переважно невпорядковану структуру, а взаємодіючи з ліпідними мембранами набувають більш видовжену, подібну до лінійної, форму. Так молекули латарцину в воді мають невпорядковану структуру, а адсорбуючись на ліпідні структури (міцели, ліпосоми, мембрани) набувають форми α -спіралі [19]. На нашу думку, ПГМГ, як і латарцини, діє на мембрану переважно за «килимовим» механізмом. За рахунок множинного поверхневого зв'язування молекул полімеру відбувається глобальне порушення структури мембрани. Можливо, що внаслідок нейтралізації гуанідинових груп ПГМГ кислими фосфоліпідами загальна гідрофобність утвореного ПГМГ - ліпідного комплексу зростає. Це полегшує його проникність всередину гідрофобної частини ліпідного бішару, відбувається продавлювання ЦПМ.

Що відбувається після адсорбції полікатиону на мембрану? Крім «килимового» механізму дії, для бактеріостатичних концентрацій препарату можливе й певне «виштовхування» або відторгнення, а не висмикування [4], зв'язаних з ПГМГ ліпідів, які втратили свою функціональність. Іонна взаємодія гідрофільної голівки фосфоліпіду з іміногрупою ПГМГ призводить до суттєвого зменшення амфифільних властивостей ліпиду, а гідратація ліпідного шару, що виникає внаслідок проникнення туди

гідрофобних ділянок полімеру, сприяє видаленню «дефективного» ліпиду з мембрани. Зв'язування ПГМГ з фосфогліцеридами, які по суті є органічними аніонами, викликає не лише зміну конформації полімеру та згортання полімерного ланцюга, а й агрегацію аніонів на утвореному асоціаті [20]. Тому можливе і утворення гексагональних ліпідних структур, тим більше, що бактеріальні мембрани, порівняно з мембранами евкаріот, містять не лише вищий відсоток негативно заряджених ліпідів, але й значно більше несиметричних ліпідів або ліпідів негативної кривизни, таких як фосфотидилетаноламін або кардіоліпін [21].

ВИСНОВКИ

В досліджених сумішах солей ПГМГ з ліпідами стійких міжмолекулярних комплексів ПГМГ - ліпід методами MALDI-TOF MS і TOF-PDMS не виявлено. Принаймні це стосується низькомолекулярної складової ПГМГ, його олігомерів масою до 1,5-2,0 кДа. Можливо, що доцільним є пошук таких комплексів ще одним методом з «м'якою іонізацією зразка» – іонізації електророзпиленням розчинів.

При адсорбції полікатиону типу ПГМГ на фосфоліпідну мембрану в першу чергу має значення не стільки взаємодія його позитивно заряджених груп з фосфогліцеридом, скільки будова мономеру, зокрема, відстань між активними гуанідиновими групами. Міцність адсорбції полікатиону зростає зі збільшенням молекулярної маси полімеру і забезпечується множинністю утворених ним зв'язків з фосфоліпідами та стереохімічним закріпленням полімеру на ліпідному бішарі з утворенням своєрідних «петель».

Отримані результати дозволяють змоделювати механізм взаємодії ПГМГ з ліпідними мембранами. Він має комбінований характер і складається з електростатичної взаємодії, стереохімічного закріплення полімеру, а також можливої сегрегації кислих та нейтральних фосфоліпідів, що виникає внаслідок їх латеральної дифузії та міцнішого зв'язування перших з полікатионом ПГМГ. Крім того, ліпіди втрачають здатність до «вільного» переміщення в межах мембрани, утворюються ліпідні структури гексагональної форми, відбувається зміна мембранного дипольного потенціалу, гідратація та декомпресія ліпідів, вилучення з мембрани частини фосфоліпідів зв'язаних з полімером тощо. Все це викликає пертурбацію ліпідного бішару і втрату ЦПМ бар'єрних, транспортних та інших функцій.

Тривалий моніторинг сумішей різних солей ПГМГ з фосфоліпідами показав відсутність ліпазної активності у препараті. І взагалі, одна з переваг ПГМГ перед такими дезінфікуючими засобами, як альдегіди, кислоти, луги, перекиси та ін. полягає в його хімічній не агресивності. В комплексному механізмі дії препарату на мембрани ймовірність руйнування молекул окремих фосфоліпідів можна практично виключити.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Воинцева И. И. Полигуанидины – дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы / И. И. Воинцева, П. А. Гембицкий. – М.: ЛКМ-пресс, 2009. – 304 с. /Voinceva I. I. Poliguandiny – dezinfekcionnye sredstva i polifunkcional'nye dobavki v kompozicionnye materialy / I. I. Voinceva, P. A. Gembickij. – М.: LKM-press, 2009. – 304 s./
2. McDonnell G. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance / G. McDonnell A. Russell // *Clinical Microbiol. Rev.* – 1999. – № 1. – Vol. 12. – P. 147–179.
3. Broxton P. A study of the antibacterial activity of some polyhexamethylene biguanides towards *Escherichia coli* ATCC 8739. / P. Broxton, P.M. Woodcock, M. Heatley, P. Gilbert // *J Appl Bacteriol.* – 1983. – Vol. 54. – P. 345–353.
4. Gilbert P. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet / P. Gilbert, L. Moore // *J Appl Microbiol.* – 2005. – Vol. 99. – P. 703–715.

5. Визначення бактерицидності універсального бактерицидного препарату «геоцид» / В. Л. Коваленко, А. В. Гнатенко, М. С. Шаргало [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія. Бюл. – 2013. – Вип. 22. – С. 210–214. /Vyznachennja bakterycydnosti universal'nogo bakterycydного preparatu «geocyd» / V. L. Kovalenko, A. V. Gnatenko, M. S. Shargalo [ta in.] // Veterynarna biotehnologija. Bjul. – 2013. – Vyr. 22. – S. 210–214./
6. Лисиця А. В. Перспективи використання у тваринництві флокулянтних властивостей біоцидів на основі полімерних похідних гуанідину / А. В. Лисиця, М. С. Мандигра // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 334–340. /Lysycja A. V. Perspektyvy vykorystannja u tvarynnyctvi flokuljantnyh vlastyvostej biocydiv na osnovi polimernyh pohidnyh guanidynu / A. V. Lysycja, M. S. Mandygra // Biologija tvaryn. – 2010. – T. 12, № 1. – S. 334–340./
7. Лисиця А. В. Механізми бактерицидної дії полігексаметиленгуанідину / А. В. Лисиця // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2011. – № 3 (25). Електронне видання: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_3/11lav.pdf. /Lysycja A. V. Mehanizmy bakterycydnoi' dii' poligeksametylenguanidynu / A. V. Lysycja // Naukovi dopovidi Nacional'nogo universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannja Ukrai'ny. – 2011. – № 3 (25). Elektronne vydannja: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_3/11lav.pdf./
8. Zhou Z. Interactions of biocidal guanidine hydrochloride polymer analogs with model membranes: a comparative biophysical study / Zhou Z., Zheng A., Zhong J. // Acta Biochem. et Biophys. Sinica. – 2011. – Vol. 43. – № 9. – P. 729–737.
9. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections / M. K. Oule, R. Azinwi, A. Bernier [et al.] // J of medical microbiol. – 2008. – Vol. 57. – P. 1523–1528.
10. Лисиця А. В. Вплив полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на плазматичну мембрану фібробластів курячих ембріонів та на штучну бiшарову ліпідну мембрану / А. В. Лисиця, П. Ю. Кривошия, О. Я. Шатурський // Біотехнологія. – 2010. – Т. 3. – № 2. – С. 56–61. /Lysycja A. V. Vplyv poligeksametylenguanidynu gidrohlorydu na plazmatychnu membranu fibroblastiv kurjacyh embrioniv ta na shtuchnu bisharovu lipidnu membranu / A. V. Lysycja, P. Ju. Kryvoshyja, O. Ja. Shaturs'kyj // Biotehnologija. – 2010. – T. 3. – № 2. – S. 56–61./
11. Сыбачин А. В. Атомно-силовая микроскопия липидных бислоев на твердой подложке и их комплексов с катионным полимером / А. В. Сыбачин, Л. А. Царькова, А. А. Ярославов // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27. – С. 218–224. /Sybachin A. V. Atomno-silovaja mikroskopija lipidnyh bisloev na tverdoj podlozhke i ih kompleksov s kationnym polimerom / A. V. Sybachin, L. A. Car'kova, A. A. Jaroslavov // Biologicheskie membrany. – 2010. – T. 27. – S. 218–224./
12. Сыбачин А. В. Комплексы поликатионов с липидными мембранами: структура и свойства: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук: спец. 02.00.06 «Высокомолекулярные соединения» / А. В. Сыбачин. – Москва, 2010. МГУ им. М.В. Ломоносова – 22 с. /Sybachin A. V. Kompleksy polikationov s lipidnymi membranami: struktura i svojstva: avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni kand. him. nauk: spec. 02.00.06 «Vysokomolekuljarnye soedinenija» / A. V. Sybachin. – Moskva, 2010. MGU im. M.V. Lomonosova – 22 s./
13. Суходуб Л. Ф. Масс-спектрометрическое и квантовохимическое исследование димерных ассоциатов нуклеозидов / Л. Ф. Суходуб, С. А. Аксенов, А. И. Болдескул // Биофизика. – 1995. – Т. 40. – № 3. – С. 506–512. /Suhodub L. F. Mass-spektrometričeskoe i kvantovohimicheskoje issledovanie dimernyh asociatov nukleozidov / L. F. Suhodub, S. A. Aksenov, A. I. Boldeskul // Biofizika. – 1995. – T. 40. – № 3. – S. 506–512./
14. Изучение совместного воздействия четвертичных аммониевых соединений и органической кислоты на модельные фосфолипидные мембраны / О. В. Ващенко, В. А. Пашинская, М. В. Косевич [и др.] // Біофізичний вісник. – 2010. – Вип. 25. – № 2. – С. 55–72. /Izuchenie sovmestnogo vozdejstvija chetvertichnyh ammonievyh soedinenij i organicheskoj kisloty na model'nye fosfolipidnye membrany / O. V. Vashhenko, V. A. Pashinskaja, M. V. Kosevich [i dr.] // Biofizichnij visnik. – 2010. – Vip. 25. – № 2. – S. 55–72./
15. Лисиця А. В. Мас-спектрометричні дослідження олігомерного складу полігексаметиленгуанідину / А. В. Лисиця, А. В. Ребрієв, В. В. Поліщук // Біотехнологія. – 2012. – Т. 5. – № 5. – С. 109–113. /Lysycja A. V. Mas-spektrometryčni doslidzhennja oligomernogo skladu poligeksametylenguanidynu / A. V. Lysycja, A. V. Rebrijev, V. V. Polishhuk // Biotehnologija. – 2012. – T. 5. – № 5. – S. 109–113./
16. Лисиця А. В. Особливості дії полігексаметиленгуанідину на штучну пласку бiшарову фосфоліпідну мембрану / А. В. Лисиця, О. Я. Шатурський // Наук. вісник Волинського нац. ун-ту ім. Л. Українки. – 2012. – № 2. – С. 79–83. /Lysycja A. V. Osoblyvosti dii' poligeksametylenguanidynu na shtuchnu plasku bisharovu fosfolipidnu membranu / A. V. Lysycja, O. Ja. Shaturs'kyj // Nauk. visnyk Volyns'kogo nac. un-tu im. L. Ukrai'ny. – 2012. – № 2. – S. 79–83./
17. Structure–Activity Relationships of Oligoguanidines - Influence of Counterion, Diamine, and Average Molecular Weight on Biocidal Activities / M. Albert, P. Feiertag, G. Hayn [et al.] // Biomacromolecules. – 2003. – V. 4 – № 6. – P. 1811–1817.
18. Финогенова О. А. Электрические потенциалы на границах липидных мембран при адсорбции одновалентных катионов и синтетических поликатионов: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. физ.-мат. наук: спец. 03.00.02 «Биофизика» / О. А. Финогенова. – Москва, 2009. – 20 с. /Finogenova O. A.

Jelektricheskie potencijaly na granicah lipidnyh membran pri adsorbicii odnovalentnyh kationov i sinteticheskix polikationov: avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni kand. fiz.-mat. nauk: spec. 03.00.02 «Biofizika» / O. A. Finogenova. – Moskva, 2009. – 20 s./

19. Синтетические аналоги антимикробных пептидов из яда среднеазиатского паука *Lachesana tarabaei* / А. А. Василевский, С. А. Козлов, О. Я. Шатурский [и др.] // Биоорганическая химия. – 2007. – Т. 33. – № 4. – С. 405–412. /Sinteticheskie analogi antimikrobnih peptidov iz jada sredneaziatskogo pauka Lachesana tarabaei / A. A. Vasilevskij, S. A. Kozlov, O. Ja. Shaturskij [i dr.] // Bioorganicheskaja himija. – 2007. – Т. 33. – № 4. – С. 405–412./

20. Чмиленко Т. С. Образование бромфеноловым красным ионных ассоциатов и их взаимодействие с полигексаметиленгуанидином в водных растворах / Т. С. Чмиленко, Е. А. Галимбиевская, Ф. А. Чмиленко // Методы и объекты хим. анализа. – 2010. – Т. 5. – № 1. – С. 19–28. /Chmilenko T. S. Obrazovanie bromfenolovym krasnym ionnyh associatov i ih vzaimodejstvie s poligeksametilenguanidinom v vodnyh rastvorah / T. S. Chmilenko, E. A. Galimbievskaja, F. A. Chmilenko // Metody i ob#ekty him. analiza. – 2010. – Т. 5. – № 1. – С. 19–28./

21. Infectious disease: connecting innate immunity to biocidal polymers / G. Gabriel, A. Som, A. Madkour [et al.] // Mater Sci Eng R Rep. – 2007. – № 8. – Vol. 57. – P. 28–64.